

**Aus dem hygienischen Institut der
Universität Basel**

(Vorsteher: Prof. Dr. J. Tomcsik)

**Zur Methode der Austestung
von Raumdesinfizientien in
Aerosolform**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen

Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Heini Meyer-Marugg

aus Liestal Baselland

1953

Verlag: F. Böhm, Liestal

Aus dem hygienischen Institut der
Universität Basel

(Vorsteher: Prof. Dr. J. Tomcsik)

Zur Methode der Austestung
von Raumdesinfizientien in
Aerosolform

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen

Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Heini Meyer-Marugg

aus Liestal Baselland

1953

Verlag: F. Böhm, Liestal

Von der medizinischen Fakultät der Universität Basel
genehmigt auf Antrag von Herrn Prof. Dr. J. Tomcsik.

Tag der Promotion: 23. Dezember 1952.



Meinem Vater.

Zur Methode der Austestung
von Raumdesinfizientien in
Aerosolform



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548218_0038

EINLEITUNG.

Im letzten Dezennium sind auf dem Gebiete der Luft- und Raum-Hygiene sehr viele Publikationen, meist amerikanischen oder englischen Ursprungs, erschienen. Fast alle experimenteller Natur, sind sie gross angelegt und mit komplizierten und teuren Apparaten ausgeführt. Ausgangspunkt dazu bilden epidemiologische Probleme und Fragen rein lufthygienischer Art.

Unter dem Eindruck der vielen angelsächsischen Arbeiten, und auch anhand der darin zitierten früheren Publikationen könnte man leicht zur Auffassung kommen, dass vor dem zweiten Weltkrieg auf diesem Gebiete nicht viel publiziert worden sei, und vor allem auch, dass alle angewandten Methoden relativ neu seien. Zweck der vorliegenden Arbeit ist es nun, zu untersuchen, inwieweit mit verhältnismässig einfachen Apparaturen brauchbare Resultate zu erhalten sind. Zwei Probleme sollen zuerst anhand der Literatur besprochen werden: Die Bestimmung der Luftkeimzahl und der Begriff des Aerosols. Diese beiden Fragen stehen im Zentrum der methodischen Probleme der Lufthygiene, um die es in dieser Arbeit vor allem geht.

METHODEN ZUR BESTIMMUNG DER LUFTKEIMZAHL.

Untersuchungen über Luftbakterien wurden schon in den Anfangsstadien der Bakteriologie ausgeführt. Die älteste Methode zur Bestimmung der Luftkeimzahl ist die sog. Platten- oder Expositions-
methode. Dabei werden Platten mit festen Nährböden während einer bestimmten Zeit offen aufgestellt und nach der Inkubation die entstandenen Bakterienkolonien ausgezählt; so bestimmte

Robert Koch, cit. nach Chope und Smillie (1), schon Luftkeime. Diese Methode hat verschiedene Nachteile. Man erhält damit nur eine Selektion aus dem "Spektrum" der in der Raumluft vorhandenen Keime; alles, was in der Luft schwebt, und vieles von dem was nur langsam zu Boden sinkt, wird nicht erfasst. Geringste Luftveränderungen können das Ergebnis sofort verändern. Von einer quantitativen Erfassung des Bakteriengehaltes im Raum kann nur unter gewissen Bedingungen gesprochen werden. Dass diese Methode aber auch heute noch wertvolle Dienste leisten kann, soll weiter unten gezeigt werden.

Bald entstand das Bedürfnis, die Bakterienzahl in einem bekannten Raumvolumen zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurde schon 1885 durch Miquel, cit. nach Chope und Smellie (1), das sog. Filterprinzip beschrieben. Ein steriler flüssiger Nährboden wird mit der zu untersuchenden Luft durchströmt, so dass die Luftkeime in der Flüssigkeit zurückbleiben und daraus gezüchtet und gezählt werden können.

1888 berichtete Petri (2) über eine andere Methode; er füllte Glasröhren mit Sand und durchströmte diese Sandfilter mit bekannten Luftvolumina. Anschliessend wurde der Sand mit flüssigem Agar zu Platten gegossen und die entstehenden Bakterienkolonien gezählt. Petri war der erste, der die Expositionsmethode mit der Filtermethode verglich. Eine Variation dieses Verfahrens wurde von Ficker (3) angegeben. Dieser Autor verwandte anstelle von gewöhnlichen Sandfiltern solche aus feinem Glassand, was Vorteile beim Auszählen bietet. Er befasste sich auch mit der Frage, wieviel Luft in einer bestimmten Zeit filtriert werden müsse, und kam dabei zum Ergebnis, dass bei einer guten Methode

in kurzer Zeit ein möglichst grosses Luftvolumen durchströmen müsse. Diese Verfahren erfuhren noch kleine Modifikationen. So wurden bisweilen Filter aus löslichen Substanzen (z.B. Glucose) verwendet.

Trotzdem kurz darauf die grundlegende Arbeit von Flügge (4) über "Die Verbreitung der Phthise durch staubförmiges Sputum und durch beim Husten verspritzte Tröpfchen" erschien, wurden danach einige Zeit keine grösseren Arbeiten mehr über Luftbakteriologie veröffentlicht. Mit Ausnahme einer anderen Arbeit von Flügge (5), wobei Bakterien künstlich zerstäubt werden, und anschliessend Luftuntersuchungen mit der Expositionsmethode angestellt werden, befassen sich alle bisher erwähnten Arbeiten mit der Untersuchung von nicht künstlich infizierter Luft, und immer wurde in sehr grossen Räumen gearbeitet.

1933 entwickelte W.F. Wells (6) eine neue Methode zur Luftkeimbestimmung. Dabei wird in einem rotierenden Metallzylinder, dessen "Deckel" und "Boden" mit der zu untersuchenden Atmosphäre, resp. mit einer Saugpumpe in Verbindung stehen, die Luft bei hoher Tourenzahl zentrifugiert. Mit dieser Methode arbeiteten Wells et al. eine neue Konzeption von Flügges "Tröpfcheninfektion" aus (7,8); siehe darüber weiter unten in dem Abschnitt über den Begriff Aerosol.

Offenbar entspricht aber diese Wells-Zentrifuge auch nicht allen Bedürfnissen; so finden wir in einer Publikation von R. Pressman (9) die Bemerkung "under practical conditions the centrifuge presents many difficulties". Dieser Autor konnte z.B. mit der Wells-Zentrifuge Tbc-Bazillen nicht nachweisen, wohl aber

konnte er dies mit der von ihm sog. "verlängerten Plattenmethode" (längere Expositionszeit). Ausserdem ist die Wells-Zentrifuge ein sehr teurer Apparat. So ist es nicht verwunderlich, dass wieder neue Apparate auftauchten. Hollaender und Dalla Valle (10) saugten Luft durch einen Trichter auf Agarplatten; dies wäre eine quantitative Modifikation der Expositionsmethode. Wheeler, Foley und Jones (11) beschrieben 1941 folgende Methode: Nach dem Prinzip von Miquel wird ein mit einem flüssigen Nährboden gefüllter Erlenmeyerkolben mit einem seitlichen Ansatz (Fig.1) versehen. Mittels des seitlichen Ansatzes, an dem eine Augpumpe angeschlossen werden kann, und einem in den Kolben tauchenden Glasrohr, das unten eine perforierte Kugel trägt, wird die Nährflüssigkeit mit der zu untersuchenden Luft durchströmt. Die Glaskugel taucht in Glasperlen; damit wird erreicht, dass die bakterienhaltigen Partikel nach Möglichkeit in ihre Bestandteile zerlegt werden. Diese Methode wurde durch die Autoren mit der Wells-Zentrifuge verglichen und ergab anscheinend gleichwertige Resultate. Bei diesen Durchströmungsmethoden (Angelsächs. Lit. "Bubbler methods") ergibt sich insofern ein neuer Gesichtspunkt, als bakterienhaltige Partikel in der Flüssigkeit aufgeteilt werden. Enthält ein Teilchen mehrere Mikroorganismen, so besteht die Möglichkeit, dass es bei der Durchströmung in seine Bestandteile aufgelöst wird und entsprechend viele Kolonien entstehen. Im Gegensatz zur Plattenmethode wird hier nicht die Anzahl der bakterienhaltigen Teilchen, sondern die Gesamtzahl der überhaupt vorhandenen Bakterien bestimmt. Auf diesen Unterschied wird vor allem auch in der Monographie über Lufthygiene von Bourdillon, Lidwell et al. (12) aufmerksam gemacht. Die weitere Aufarbeitung der Luftproben nach

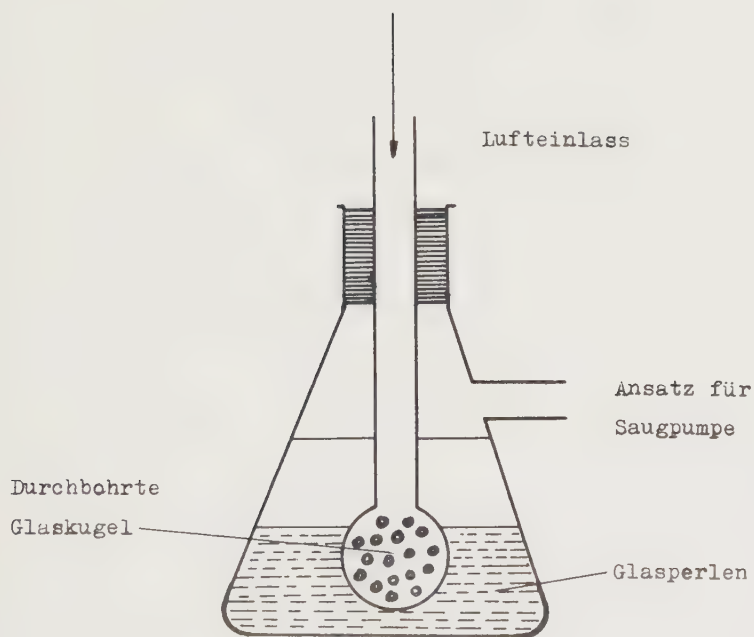


Fig. 1

der Wheeler'schen Methode erfolgt so, dass nach der Durchströmung der Flüssigkeit durch ein bekanntes Volumen Luft eine abgemessene Probe der Flüssigkeit mit Agar zu Platten gegossen wird und aus der entstandenen Kolonienzahl auf die Bakterienzahl pro m³ Raumluft umgerechnet wird. Die Autoren verwendeten diesen Apparat in Räumen von ungefähr 30-40 m³ Inhalt an und entnahmen pro Versuch durchschnittlich 100 L Luft.

Eine Variation dieses Apparates wurde von Moulton, Puck und Lemon (13) beschrieben. Die angesaugte Luft gelangt dabei zuerst in eine Flüssigkeit, diese wird in einem geschlossenen System zerstäubt und der entstandene Nebel noch in Bouillon absorbiert und daraus Proben entnommen. Nach diesen Autoren erfasst das System von Wheeler 86%, die Wells-Zentrifuge 15% der vom soeben beschriebenen Apparat erfassten Bakterien.

Noch ein anderes System zur Luftkeimbestimmung wurde 1941 von Bourdillon, Lidwell und Thomas (14) abgegeben. Dieser, von den Autoren "Slit-Sampler" genannte Apparat, ist folgendermassen konstruiert: Eine grosse, langsam rotierende Agar-Platte ist nach oben mit einem Deckel abgeschlossen, in dem sich (direkt über dem Radius der Platte) ein 1/4 mm breiter Schlitz befindet. Durch diesen Schlitz wird die zu untersuchende Luft angesaugt, und die Bakterien, resp. die bakterienhaltigen Partikel gelangen, wie bei der gewöhnlichen Plattenmethode, direkt auf den Nährboden. Diese Methode ist wohl die am meisten ausgearbeitete und wurde in der schon zitierten Monographie von Bourdillon, Lidwell et al. (12) ausführlich auf ihre Verwendbarkeit hin geprüft.

Bevor wir die soeben aufgezählten Methoden zusammenfassend besprechen und auf ihre Brauchbarkeit untersuchen können, müssen noch einige theoretische Fragen der Lufthygiene erörtert werden.

DER BEGRIFF AEROSOL.

Neben der Bestimmung der Keimzahl in der Luft ging es von Anfang an in der Lufthygiene um folgende 2 Fragen: Wie werden pathogene Keime durch die Luft auf Lebewesen übertragen?, und wie kann man diese Uebertragung bekämpfen. Diese beiden Fragen bieten, wie wir sehen werden, ähnliche Probleme.

Flügge (4) konnte zeigen, dass Infektionen der Atemwege durch Speicheltröpfchen übertragen werden. Später erkannte man, dass dieser Vorgang recht komplex ist. Die bekannteste Arbeit, die sich zusammenfassend damit beschäftigt, stammt von W.F. Wells (6). Dieser Autor kommt auf Grund seiner Untersuchungen mit seiner Zentrifuge zum Ergebnis, dass die Infektion durch die Luft auf 2 Arten erfolgen kann: Entweder durch eigentliche Tröpfchen; dabei handelt es sich um Partikel, deren Durchmesser mehr als $1/10$ mm beträgt und die rasch absinken (bevor sie verdampfen). Oder aber die Infektion erfolgt durch sog. "droplet nuclei"; das sind ursprünglich auch Tröpfchen (deren Durchmesser jedoch weniger als $1/10$ mm beträgt), welche aber zufolge ihrer Kleinheit eintrocknen bevor sie zu Boden gefallen sind. Diese kleinen Partikelchen erreichen rasch eine Geschwindigkeit, welche konstant bleibt; diese Tatsache wird durch das Gesetz von Stokes ausgedrückt (Die Fallgeschwindigkeit ist proportional der Oberfläche des Tröpfchens). An dieser Stelle muss auch der Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Lebensdauer eines bakterienhaltigen

Partikels erwähnt werden: ist die Atmosphäre mit Feuchtigkeit gesättigt, dann verdampft ein Tröpfchen nicht oder nur in geringem Ausmass und sinkt deshalb rasch. Diese Unterscheidung von droplet nuclei und droplets s.s. erweitert die Möglichkeiten der Verbreitung von Infektionskrankheiten durch die Luft, indem sie zum Ausdruck bringt, dass Mikroorganismen längere Zeit lebend in der Luft suspendiert bleiben können. In einer späteren Arbeit befasst sich Wells (8) speziell mit dem Unterschied zwischen bakterienhaltigem Staub und aus eigentlichen Tröpfchen entstandenen "droplet nuclei". Er kommt dabei zum Schluss, dass Staub viel rascher aus der Luft verschwindet als "droplet nuclei". 1938 publizierte M.A. Trillat (15) eine Arbeit, die sich ebenfalls mit den Bedingungen befasste, unter denen sich Bakterien in der Luft befinden. In dieser Arbeit begehen wir zum ersten Male dem Ausdruck Aerosol, und zwar nennt der Autor "aérosols en général" alle in der Luft suspendierten Teilchen (fest oder flüssig, bakterienhaltig oder nicht). Im Gegensatz dazu sind "aérosols microbiens" bakterienhaltige Partikel, welche in der Luft suspendiert sind ("la dispersion de particules microbiennes dans l'air"). Der Ausdruck "aérosols microbiens" deckt sich mit der Bezeichnung "droplet nuclei". Der Autor vertritt die Meinung, dass trockener bakterienhaltiger Staub zu "nassem Staub" werden könne, wenn seine organischen Teilchen bei einem bestimmten Feuchtigkeitsgrad der Luft als Kondensationskerne wirken. Es handelt sich also um den umgekehrten Vorgang wie bei der Entstehung von "droplet nuclei" aus Sputumteilchen. Und damit ergibt sich der nahe Zusammenhang der beiden Fragen: Uebertragung von Bazillen durch die Luft und Bekämpfung dieser Uebertragung.

Denn heute bezeichnet man als Aerosole ausschliesslich bakterizide (und bakteriostatistische) Mittel, welche in der Form eines definierter, kolloidalen Systems zur Luftdesinfektion (oder zur "Desinfektion" der Atemwege) verwendet werden. Der Definition gemäss besteht die disperse Phase dieses Systems aus einem flüssigen Stoff und das Dispersionsmittel aus einem Gas, nämlich der Raumluft. Alle anderen Kombinationen (gasförmig-fest, flüssig-gasförmig, flüssig-fest etc.) fallen in der vorliegenden Arbeit ausser Betracht. In einer Publikation aus dem Jahre 1934 (16) begegnen wir für Aerosol dem Ausdruck "Schwebestoffe in Gasen", worin die Ausdehnung des Begriffes deutlich wird.

Es folgen nun anhand eines zusammenfassenden Artikels von Acklin und Schmid (17) noch einige Zahlen und Angaben über Aerosole, wie sie zur Raumesinfektion verwendet werden. Zur Uebersicht sei aus dieser Arbeit Tab. 1 wiedergegeben. Aus dieser Tabelle können wir unmittelbar ablesen, dass die Grösse des einzelnen Flüssigkeitströpfchens von entscheidendem Einfluss auf ein Aerosol ist. Beim optimalen Durchmesser (5-25⁴⁶) hält sich das Aerosol schwebend und ist relativ widerstandsfähig gegen Aufprall. Diese beiden Eigenschaften sichern eine möglichst lange Wirkungs-dauer. Ist das einzelne Tröpfchen grösser, so hat es eine kleinere Oberflächenspannung, platzt beim Aufprall und büst damit einen Teil seiner Wirksamkeit ein. Ausserdem hat ein grösseres Teilchen weniger Brown'sche Molekularbewegung, was die Chance auf ein Zusammentreffen mit Luftbakterien - die sog. Trefferzahl - verkleinert. Ob ein Aerosolteilchen noch platzt (d.h. netzt), hängt auch von der ihm mitgegebenen kinetischen Energie ab. Je grösser die kinetische Energie, desto grösser wiederum die Tref-

Teilchendurchmesser in μ	Teilchenbewegung in der Luft	Auftrieb d. Teilchen	Ob.Fl.Sp.d. Teilchen	Verhalten beim Aufprallen	Aerosolbezeichnung
250-1000	sinken	klein	klein	Zerplatzen $\longrightarrow$ Netzen	feuchter Spray
5-10-25	schweben	mittel	normal	stabil	Normal-Aerosol
<0.1	schweben	mittel	gross	stabil	Kolloid-aerosol
<0.01	steigen	gross (Expansion)	—	a.stabil b.kondensieren $\longrightarrow$ netzen	Molekular-Aerosol (Dampf, Gas)

Tabelle 1.

Aerosol-Eigenschaften (aus: Acklin
u. Schmid, Therapeut. Umsch. VI,
1 (1949))

ferzahl. Wenn man bedenkt, für welche verschiedenen Zwecke die bakteriziden Aerosole heute verwendet werden (Schlussdesinfektion, Insektenbekämpfung, Tiefeninhalation und laufende Raumluftdesinfektion) so wird begreiflich, dass in jedem einzelnen dieser Fälle wieder ganz andere Anforderungen an die Qualität des Aerosols gestellt werden. Grosse Tröpfchen werden z.B. bei der Tiefeninhalation ihre Wirksamkeit nicht entfalten können; kleine Tröpfchen sind bei der Insektenbekämpfung nicht wirksam. Andererseits bringt es die Vielfalt der Faktoren, welche am System der Aerosole beteiligt ist mit sich, dass ein Aerosol nie einheitlich zusammengesetzt ist, dass es gleichsam aus einem ganzen "Spektrum" qualitativ verschiedener Aerosole zusammengesetzt ist. Dazu kommt, dass sich die raumbedingten Faktoren (Temperatur, relative Feuchtigkeit, Luftbewegungen) auch verändern können und damit einen Einfluss auf den Zustand des Aerosols ausüben. Endlich beeinflussen die Eigenschaften des im Aerosol verteilten Stoffes (Siedepunkt, Löslichkeit, Oberflächenaktivität) das entstehende Aerosol ebenfalls. Eine Anzahl dieser Faktoren wird bei der Besprechung der eigenen Versuche weiter unten noch diskutiert werden.

An dieser Stelle muss noch kurz auf die Frage eingegangen werden, wie man sich überhaupt die Raum- oder "Luft"-Desinfektion durch Aerosole vorstellt. Trillat (15), der als der Entdecker der sterilisierenden Eigenschaften von Aerosolen angesehen wird, arbeitete vor allem mit Resorcinol. Dieser Stoff ist in vitro in einer Konzentration von 1:200 (in wässriger Lösung) noch bakterizid, währenddem als Aerosol 1 mg (in wässriger Lösung zerstäubt) in einem Raumvolumen von 5 m³ noch wirksam ist.

Trillat nahm an, dass die Konzentration im einzelnen Tröpfchen mit den in vitro-Konzentrationen übereinstimme und betonte deshalb vor allem die Wichtigkeit der grösstmöglichen "Trefferzahl". Er forderte also in der Zeiteinheit möglichst viele Zusammenstösse der bakterienhaltigen Partikel mit den Aerosolteilchen. Die gleiche Auffassung wird vertreten durch Pulvertaft et al. (18), welche auch darauf hinweisen, dass die Raumfeuchtigkeit die Partikelgrösse beeinflusst. Nach Mastermann (19) genügen diese Zusammenstösse nicht für die Erklärung der fast augenblicklichen Wirkung der Aerosole; in Versuchen mit einem Aerosol aus NaOCl wird gezeigt, dass Hypochlorit aus den Aerosoltröpfchen verdampft und vor allem als Dampf bakterizid wirksam ist. Dieser Autor konnte auch nachweisen, dass Teilchen von den Dimensionen wie sie Trillat forderte (0.4-1.4) innerhalb von Sekundenbruchteilen verdampfen, so dass die notwendigen "Trefferzahlen" gar nicht zustande kommen können. Diese Auffassung wurde später mehrfach bestätigt und zwar vor allem durch Versuche mit Propylenglykol ($\text{CH}_3\text{-CH.OH-CH}_2\text{.OH}$). Dieser praktisch atoxische Vertreter der Glykolreihe wurde von Twart und Baker (20) als Lösungsmittel (meistens für Phenolderivate) bei ihren Aerosolversuchen verwendet. Robertson und seine Mitarbeiter (21) entdeckten dann, dass ein Propylenglykol-Aerosol (in wässriger Lösung) in Volumenverhältnissen von 1:4-5 Millionen noch sehr stark als Luftdesinfiziens wirksam ist. Weil Propylenglykol sehr stark hygroskopisch ist, stellt man sich ausserdem vor, dass das Mittel auf bakterienhaltigen Tröpfchen kondensiert und auf diese Art und Weise an Ort und Stelle hohe Konzentrationen des Stoffes entstehen (22). Diese Auffassung kann man aber nur gelten lassen, wenn die Erre-

ger in der Luft tatsächlich in wasserhaltigen Partikelchen vorhanden sind; Diese Voraussetzung trifft aber nur im Experiment zu. So konnte Puck sagen (23): "Pure germicide vapors free of aerosol droplets are almost instantly lethal to air-borne bacteria. Conversely, pure germicidal aerosols in the absence of vapor, had no effect on air-borne bacteria within 20 minutes or more". Er kommt zum Schlusse: Je hygroskopischer ein Luftdesinfiziens, destorascher erfolgt seine Kondensation auf den vorhandenen bakterienhaltigen Tröpfchen, desto besser und vor allem rascher erfolgt seine Wirkung. Die frühere "germicidal-aerosol"-Theorie erklärt sich, weil die betreffenden Autoren (15,18,20) mit wasserunlöslichen Substanzen gearbeitet haben. Harris und Stokes (25) konnten 1945 sagen: "Propylenglykol is the agent of choice in small wards, offices and spaces of similar size." Später gingen diese Autoren (26) dazu über, Propylen-Glykol nur noch in Dampfform zu verwenden.

Als letzter wichtiger Faktor bei der Aerosolwirkung muss die relative Feuchtigkeit der Raumluft erwähnt werden. Ebenfalls an Versuchen mit Propylenglykol zeigten Puck et al. (27), dass mit steigender relativer Feuchtigkeit die Wirksamkeit eines Propylen-glykol-Aerosols zunimmt. Das Optimum liegt bei ca. 60% relativer Feuchtigkeit. Oberhalb dieses Wertes werden die Resultate wieder ungünstiger, weil auch der Wasserdampf auf den bakterienhaltigen Partikeln kondensiert, und damit die Konzentration des kondensierten Propylenglykols kleiner wird. Allgemeiner werden diese Ergebnisse in der Monographie von Bourdillon und Lidwell (12) formuliert: für niedrige relative Feuchtigkeitsgrade eignet sich ein Aerosol mit niedrig gesättigtem Dampfdruck, bei

hoher relativer Feuchtigkeit eines mit hoch gesättigtem Dampfdruck. Alle müssen gut wasserlöslich sein. Theoretisch steigt die Wirksamkeit parallel mit der Konzentration des Mittels bis zum Punkte des maximalen Dampfdruckes, bei dem Kondensation eintritt.

In Aerosolversuchen mit Testkeimen konnten Dunklin und Puck (28) zeigen, dass bei einer relativen Feuchtigkeit von ca. 50% eine sehr starke Senkung der Bakterienzahl eintritt, unabhängig von der Natur des verwendeten Aerosols. Dieses Phänomen wird durch die physikalischen Konstanten der Aerosole nicht genügend erklärt (Dampfdruck, Löslichkeit). Die Autoren nehmen an, dass für die Bakterienzelle ein kritischer Grad der Wasserabgabe besteht, bei dem die Mikroorganismen gegenüber toxischen Agentien sehr empfindlich sind. Die Versuche verliefen nämlich negativ, d.h. es erwies sich dann kein Feuchtigkeitsgrad als besonders lethal, wenn das Suspensionsmittel z.B. reines Wasser war.

Der Zweck dieser einleitenden Uebersicht ist, einen Begriff über die zahlreichen Probleme der modernen Raumhygiene zu geben und auf die mannigfachen Faktoren hinzuweisen, welche bei Arbeiten auf diesem Gebiet berücksichtigt werden müssen. Im folgenden Teil soll anhand von eigenen Versuchen ein Kapitel herausgegriffen werden: Die Methodik zur Untersuchung der Wirksamkeit eines Raumdesinfiziens in Aerosolform.

EIGENE VERSUCHE.

Die Versuche werden, mit wenigen Ausnahmen zu Kontrollzwecken, in einem Raum von 21 m^3 Inhalt ausgeführt, bei dem zur Vermeidung von Luftströmungen und grösseren Temperaturschwankungen ein Eingang mit Schleuse angebracht wurde. Die Apparatur war

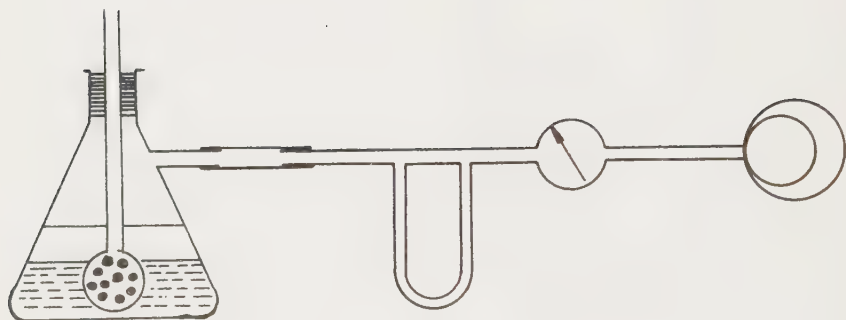
folgendermassen angeordnet (Fig.2).

In Vorversuchen zeigte sich, dass eine Durchströmungsgeschwindigkeit von 5L/Min. am geeignetsten war. In der Originalarbeit von Wheeler et al. (11) wird das Optimum als Zwischen 3.6 und 9.0L/Min. liegend angegeben. Als Durchströmungsflüssigkeit wurde das Medium von Lockemann* verwendet, weil mit Bouillon sehr starkes Schäumen auftrat. Die Durchströmungszeit betrug 10' oder 15', so dass pro Versuch ein Luftvolumen von 50 bis 75 Litern analysiert wurde. 5ccm der durchströmten Flüssigkeit wurden mit Agar in Platten ausgegossen; für jede einzelne Keimzahlbestimmung wurden 3 solcher Platten hergestellt und zur Berechnung der Keimzahl pro m^3 der Mittelwert aus diesen 3 Platten verwendet. Das endgültige Resultat wurde nach 6-tägigem Bebrüten bei 37°C abgelesen. Die entstandenen Kolonien wurden mit der Lupe gezählt.

Zur Kontrolle der Methode wurden mehrmals Versuche gemacht, bei denen an der Stelle A (v. Fig.2) 2 Flaschen hintereinander geschaltet wurden. In allen Fällen blieben die mit dem Inoculum aus Flasche B (in Fig.2 nicht gezeichnet) gegossenen Platten steril; d.h., dass die Luftkeime beim Saugen durch die erste Flasche quantitativ zurückgehalten werden.

In 20 Leerversuchen wurde vorerst eine mittlere Keimzahl von 3080 Keimen/ m^3 im Versuchsraum gefunden; es handelte sich dabei vor allem um Vertreter der Subtilis-Gruppe, Sarcinen und Staphy-

* NaH_2PO_4 (monobas.) 3.0, KH_2PO_4 (monobas.) 4.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.5, Natr.citr. tribas. crist. 2.5, Ferro-Amm. sulfur. 0.01, Glykokoll 5.0, Glycerin 25.0, Aq. dest. ad 1000.0



Saugflasche nach
Wheeler (75 ccm)

A

Manometer

B

Gasuhr

C

Zentrifuge
Pumpe

D

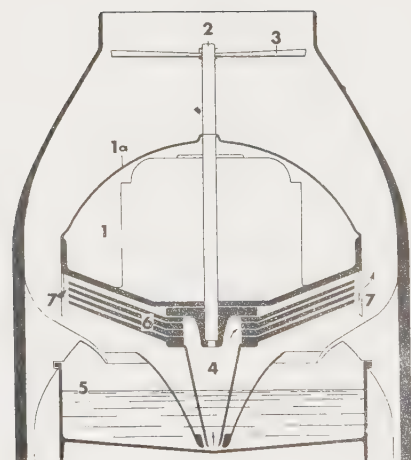
Fig. 2

lococcus albus. Vergleichsweise sei erwähnt, dass Wheeler (11) mit der gleichen Methode in Krankensälen Zahlen zwischen 2960 und 4440 Keime/m³ Raumluft fand.

In der Absicht, für die späteren Desinfektionsversuche konstante Verhältnisse zu schaffen, wurde in dem erwähnten Versuchsraum ein Prodigiosus-Suspension (*Serratia marcescens*) zerstäubt. Zu diesem Zwecke stand uns ein Aersosl-Apparat* zur Verfügung, dessen Konstruktion aus Fig.3 ersichtlich ist. Durch Rotation eines Konus, der in Flüssigkeit taucht, wird die zu zerstäubende Flüssigkeit von einem Lamellensystem erfasst, in kleinste Teilchen aufgeteilt und durch den Propeller im betreffenden Raum verteilt. Bei den von uns angewandten Einstellungen betrug die Partikelgrösse nicht mehr als 5 μ (Zerstäubungsleistung 280-300 ccm/h). Es sollte nun zuerst festgestellt werden, wie sich die mit diesem Apparat zerstäubte Prodigiosus-Suspension ohne nachfolgende Desinfektion verhält. Dabei wurde folgendermassen vorgegangen: Von einer 24-stündigen Schrägagar-Kultur wurde eine Suspension in phys. NaCl (400 Millionen Keime/ccm) hergestellt, von dieser 5 ccm in 500 ccm phys. NaCl gegeben und während 30' zerstäubt. Keimzahlbestimmungen erfolgten vor dem Zerstäuben, unmittelbar danach und dann in $\frac{1}{2}$ -stündigen bis 1-stündigen Abständen nach dem Zerstäuben. Das Auffangen der Keime erfolgte mit dem Wheeler-Apparat; bei jeder Keimzahlbestimmung wurden aus jedem durchströmten Kolben mit einem Inoculum von 5 ccm je 4 Agar-Platten gegossen und diese nach 6-tägiger Inkubation bei 37°C ausgezählt.

* Der Firma "Defensor" A.G. Zürich, Uraniastr. 40, sei an dieser Stelle für ihre Zuvorkommenheit bestens gedankt.

Fig. 3



Zweitens machten wir parallel zu jeder Keimzahlbestimmung mit der Wheeler-Methode eine Bestimmung mit der Sedimentationsmethode (1 Platte 10' aufgestellt).

Als Erstes folgt nun die Zusammenstellung einer Versuchsreihe zum Vergleich der beiden Methoden bei konstanten Bedingungen (Temperatur zwischen 21° und 23°C , gleicher Bazillenstamm in möglichst gleichen Mengen mit denselben Apparaten zerstäubt). Die Kurven, die sich dabei ergeben, sind in den Figuren 4 und 5 dargestellt (Bakterienzahlen logarithmisch auf der Ordinate aufgetragen). Wenn man den Kurvenablauf, welcher sich mit den beiden Methoden ergibt, vergleicht, so sieht man auf den ersten Blick die vollständige Uebereinstimmung; starker Abfall der Keimzahl nach 30', praktisch horizontaler Kurvenverlauf bis zur 4. Stunde. Die Schwankungen in den Keimzahlen, besonders bei der ersten Bestimmung, erklären sich aus folgenden Tatsachen: Erstens läuft der Zerstäubungsapparat nie ganz genau gleich schnell, so dass auch bei eingehaltener Zeit nicht immer die gleiche Menge Bakteriensuspension zerstäubt wird. Zweitens spielen die Temperaturunterschiede (obwohl nur 2° - 3°C betragend) eine erhebliche Rolle, wie wir sogleich ausführlicher im folgenden Abschnitt darlegen werden. Und drittens wirken sich geringe Luftströmungen, welche in unserem Versuchsraum nie ganz vermieden werden konnten, ebenfalls auf die gefundenen Keimzahlen aus. Es kann aber sicher gesagt werden, dass die Plattenmethode der Wheeler'schen Methode als gleichwertig zu Seite gestellt werden kann, so lange man nur den Ablauf, d.h. die relativen Werte der Luftkeimzahlen bestimmen will und nicht Keimzahlen pro Raumeinheit. Nach W.F. Wells (29) kommt eine Durchströmungsmethode vor allem dann in

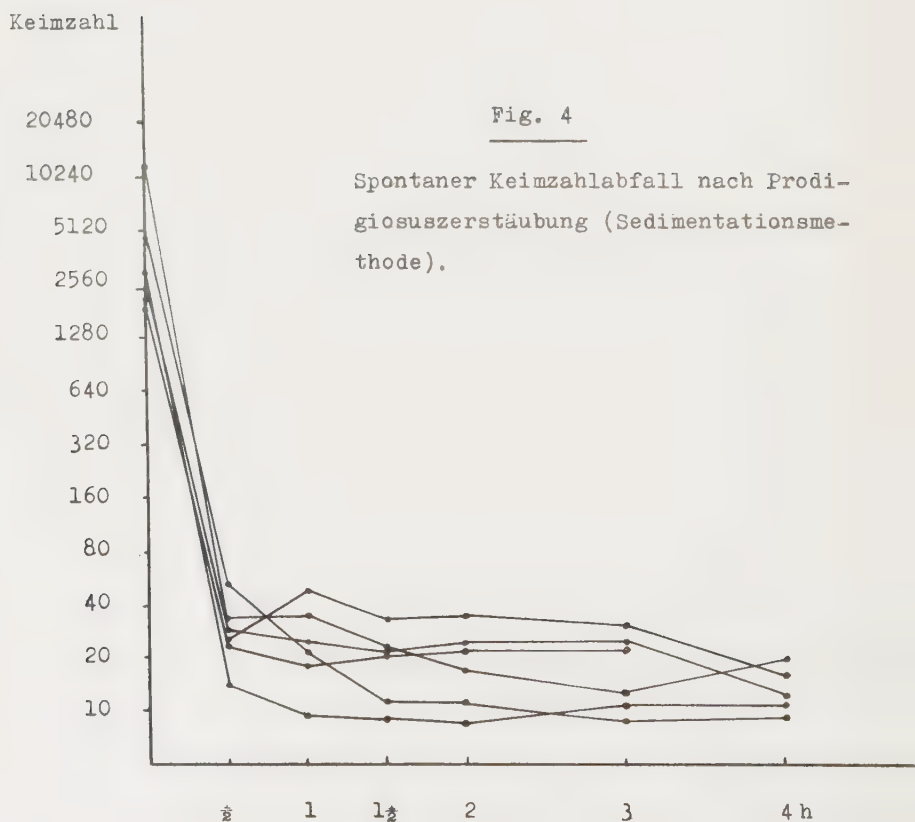
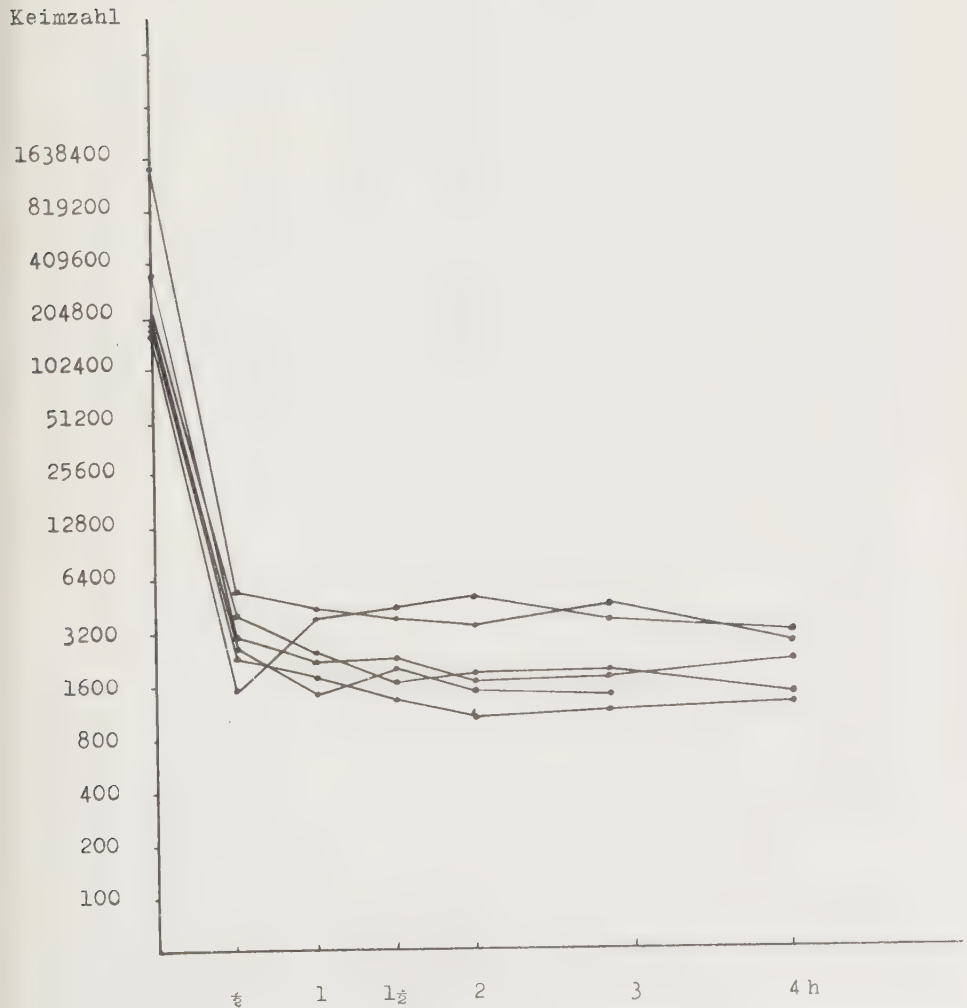


Fig. 5

Spontaner Keimzahlabfall nach Prodigiosus-
zerstäubung, pro m^3 berechnet (Wheeler'sche
Methode).



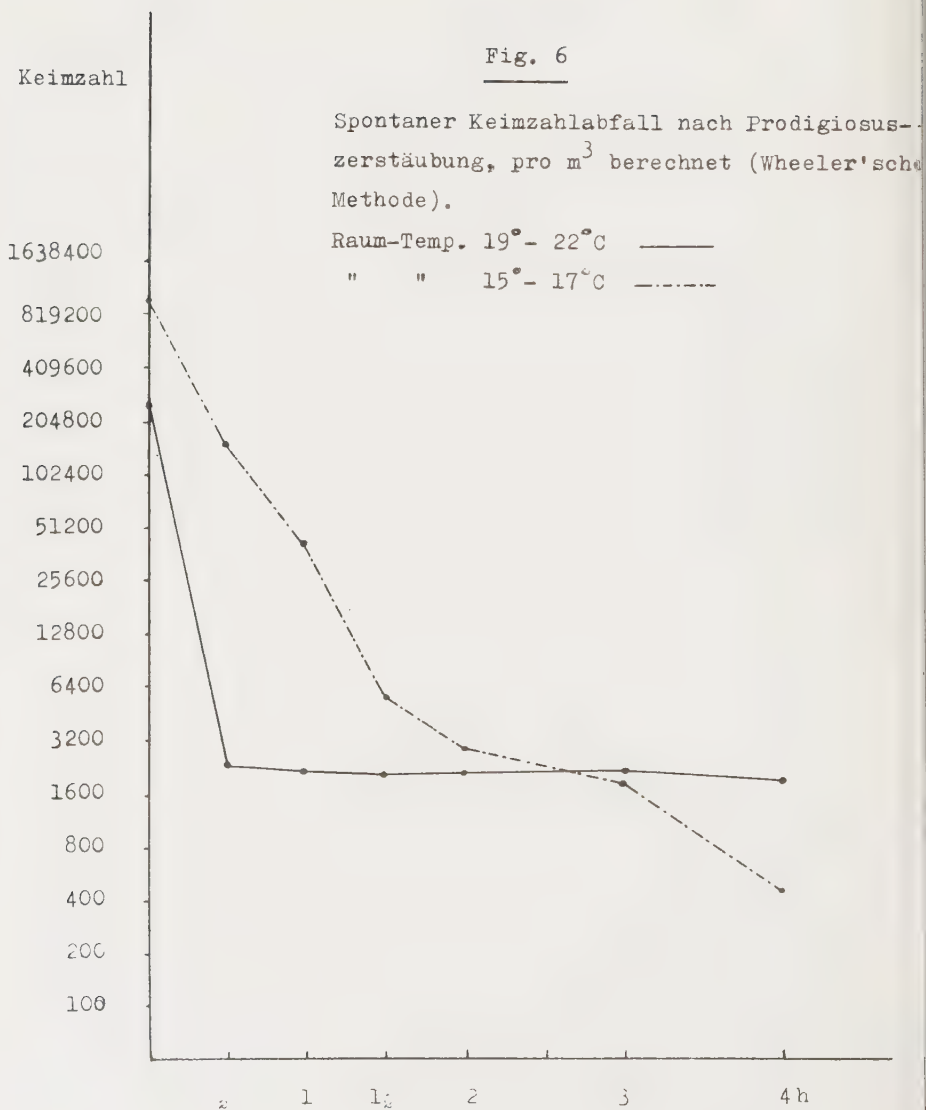
Betracht, wenn in einem Raum viel relativ grosse bakterienhaltige Staubpartikel vorhanden sind, welche in ihre (bakteriologischen) Komponenten aufgelöst werden müssen. In unserem Falle trifft dies nun gerade nicht zu, denn die Partikel nach der Prodigiosuszerstäubung, wie wir sie ausführten, sind von bekannter Grösse und verhältnissmässig uniform.

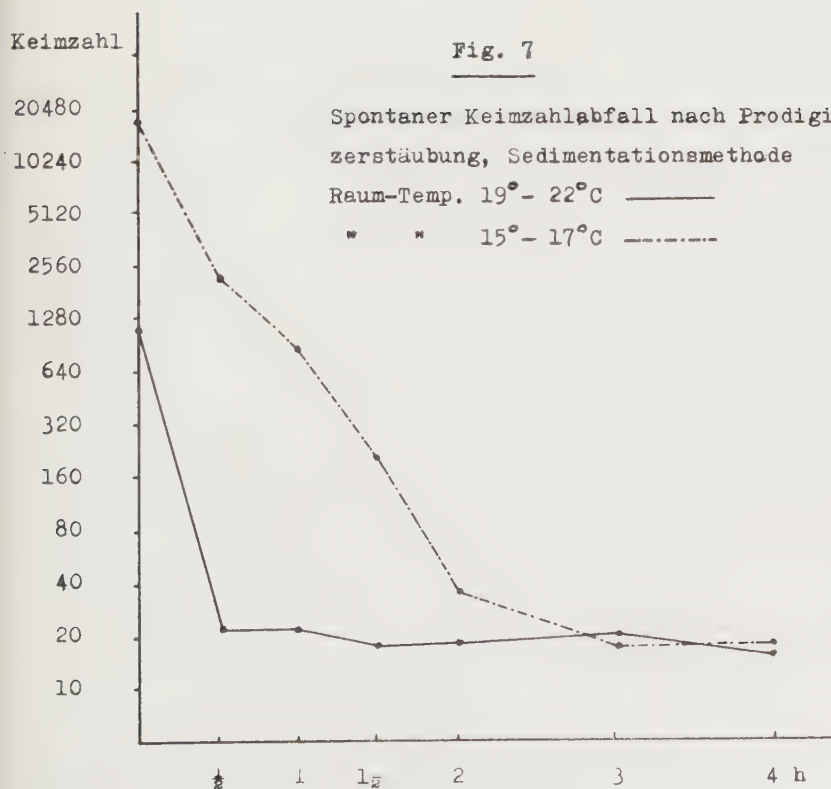
In einer anderen Serie von Versuchen gingen wir der Frage nach, inwieweit der spontane Keimzahlabfall nach Prodigiosus-Zerstäubung durch Veränderungen der Raum-Temperatur beeinflusst wird. Diese Resultate haben wir in Tabelle 2 sowie in Fig. 6 und 7 zusammengestellt. Die Zahlen bedeuten arithmetische Mittel aus 15 Versuchsserien (105 ^{Zahlen} Keimbestimmungen) nach Zerstäuben einer Prodigiosus-Suspension unter den gleichen Versuchsbedingungen wie oben dargelegt; die Darstellung erfolgt wegen der hohen Zahlen logarithmisch. In erster Linie springt bei der Betrachtung des Kurvenbildes wiederum die auffallende Uebereinstimmung zwischen der quantitativen und der Sedimentationsmethode in die Augen. Was nun die Verhältnisse bei verschiedenen Temperaturen betrifft, so sind 2 Punkte hervorzuheben. Erstens ergeben sich bei niedrigen Temperaturen deutlich und signifikant höhere Anfangswerte, welche bis zum 2. Stundenwert gleichförmig in einer annähernd geraden Linie absinken. Wenn man die entsprechenden Einzelwerte vergleicht, so sinken sie von einer Keimzahlbestimmung zur anderen bei beiden Methoden im gleichen Verhältnis ab. Zweitens fällt auf, dass bei den höheren Temperaturen (19° - 22° C) innert den ersten 30' nach dem Zerstäuben ein sehr starker Keimzahlabfall eintritt; von diesem Punkte an bleiben die Werte, wenigstens so lange wir sie verfolgt haben, praktisch konstant.

Zeit nach dem Zer- stäuben	Keimzahl nach Wheeler		Keimzahl mit der Sedimentationsmethode	
	Raumtemperatur		Raumtemperatur	
	19-22°C	15-17°C	19-22°C	15-17°C
0'	259'636	852'965	1036	14'567
30'	2'756	159'397	24	2'353
1h	2'377	40'099	21	693
1½h	2'283	6'008	17	240
2h	2'175	2'858	18	36
3h	2'460	1'207	20	15
4h	2'080	450	13	15

Tabelle 2.

Keimzahl-Verminderung nach dem Zerstäuben einer *Prodigiosus*-Suspension. Vergleich der Wheeler'schen mit der Sedimentations-Methode.





Hier sind wir, von einem Ausgangspunkt kommend, auf das gleiche Phänomen gestossen, wie es schon 1948 von Dunklin und Puck (28) beschrieben wurde als diese Autoren die Beeinflussung der Keimzahl durch verschiedene Grade der relativen Feuchtigkeit untersuchten. Der Vergleich unserer Resultate mit denjenigen dieser Autoren ist deshalb auch am Platze, weil die Versuche in einem annähernd gleich grossen Raum, aber mit anderen Bakterien (*Streptococcus haemolyticus*) durchgeführt wurden. In dieser amerikanischen Arbeit wird angenommen, dass ein "kritischer Grad des Wassergehaltes der Bakterien" antibakteriell wirke; das ist nun aber auch bei unseren Versuchen in den höheren Temperaturbereichen der Fall gewesen.

Vergleichen wir nun unsere beiden Methoden in Bezug auf ihre Resultate bei verschiedenen Raum-Temperaturen, so ergeben sich Abweichungen bei der Versuchsgruppe 19°-22°C. Der Keimzahlabfall zwischen 0' und 30' entspricht nämlich bei der Wheeler'schen Methode einem Verhältnis von 96:1 (259'636:2756), währenddem bei der Sedimentationsmethode das Verhältnis nur 40:1 (1036:24) beträgt. Dieses Phänomen lässt sich folgendermassen erklären: Bei höheren Temperaturen ist die Kondensation zu grösseren bakterienhaltigen Partikeln nicht so ausgeprägt; die kleinen Partikel, wie sie aus dem Zerstäuber kommen, bleiben länger bestehen, oder verdunsten sogar noch mehr. Je kleiner aber die Partikelchen, desto länger bleiben sie im Raume schwebend und können daher von der Sedimentationsmethode nicht erfasst werden. Im Versuch bei 15-17 C ist der Abfall innert der ersten halben Stunde mit beiden Methoden praktisch gleich (5:1 bei der quantitativen, 6:1 bei der Sedimentationsmethode). Wir können also die

Schlussfolgerung ziehen, dass sich das Ausmass der Keimzahlverminderung bei niedrigen Temperaturen mit der Sedimentationsmethode nicht in seinem ganzen Umfang erfassen lässt; diese Angabe konnten wir in der uns zugänglichen Literatur nicht finden. Nach dem eben gesagten möchten wir die Sedimentationsmethode eine semiquantitative nennen, im Gegensatz zur quantitativen Wheeler'schen Methode. Abgesehen von diesem Hinweis auf die Verwertbarkeit der Methode müssen wir hier festhalten, dass die Veränderung der Temperatur allein schon den Verlauf im Absinken der Keimzahl in Modellversuchen zur Raumesinfektion zur Folge haben kann. Dies ist vor allem wichtig im Hinblick auf die nun zu beschreibenden Versuche zu diesem Kapitel.

VERSUCHE MIT DESINFEKTIONSMITTELN.

Nachdem wir in den vorhergehenden Versuchen einen Einblick in den Ablauf der Keimzahlen nach Keimzerstäubung ohne nachfolgende oder vorhergehende Desinfektion erhalten haben, gehen wir bei den nächsten Versuchen so vor, dass wir in den meisten Fällen nach der Prodigiosus-Zerstäubung nur eine einzige Keimzahlbestimmung machen, nämlich gerade anschliessend an die Keimzerstäubung. Es wurden in jedem Falle gleichaltrige Kulturen verwendet, die in gleicher Menge und mit demselben Apparat zerstäubt wurden wie bei den in Tab.2 zusammengefassten Leerversuchen.

Die Anordnung in den ersten Versuchen war folgende:

1. Während 30' Zerstäubung des Desinfektionsmittels ("Desfensol", Harnstoff-Peroxyd-Silberverbindung)*

* Freundlicherweise von der Firma "Cilag" Schaffhausen zur Verfügung gestellt.

2. Direkt anschliessend Prodigiosus-Zerstäubung (30').
3. Keimzahlbestimmung anschliessend (quantitativ und Sedimentationsmethode).

Es folgt nun das Ergebnis von 3 solchen Versuchen (Tab.3). Diese Zahlen können direkt mit der Rubrik 0' der Tab.2 verglichen werden. Der Unterschied ist auffallend. Dass die Keimzahlen nicht noch niedriger ausgefallen sind, ist wohl darauf zurückzuführen, dass wir viel mehr Keime zerstäubt haben als andere Autoren, z.B. E. Wiesmann (30). In einigen Arbeiten ist auch nicht genau beschrieben, wie alte Kulturen und wieviel davon verwendet wurde, so bei Robertson, Bigg, Miller et al. (20). Die Erfassung der Resultate ist auch bei diesen Versuchen mit beiden Methoden gleich gut.

Um zu beurteilen, wie lange ein desinfizierender Spray seine Wirkung entfalten kann, haben wir in den folgenden Versuchen (Tab.4) zwischen die Zerstäubung des Desinfektionsmittels und diejenige des Testkeimes ein zeitliches Intervall eingeschaltet. Wenn man dabei berücksichtigt, dass die Temperaturen niedriger sind (und somit die Keimzahl höher) als in den Versuchen der Tab.3, so kann man sagen, dass die Resultate eher besser sind; so lange wenigstens als das eingeschobene Intervall nicht mehr als 60' beträgt. Das gibt uns aber einen Hinweis darauf, dass bei der Wirkung der Aerosole nicht allein die Trefferzahl (mit anderen Worten die Grössenverhältnisse der Aerosolpartikelchen) eine Rolle spielt, sondern dass wahrscheinlich das gleichzeitige Vorhandensein der Dampfphase der betreffenden Substanz das Resultat auch beeinflusst; eine Auffassung, die ja von Ma-

Da- tum	Keimzahl direkt n. Prodig.-Zerstäubg.		Desinfektions- mittel (Total- menge, "Defen- sol")	Raum- Temp.
	quant.	Sedimentat.		
30.3.	13'132	698	0.5g	18°C
1.4.	1'407	61	1.0g	18°C
4.4.	67	5	1.5g	18°C

Tabelle 3.

Keimzahl nach vorausgegangener Ver-
teilung eines Harnstoff-Peroxyd-
Silber-Praeparates und anschliessenden
künstlicher Luftinfektion mit
einer Prodigiosus-Suspension.

Datum	Intervall zwischen Aerosol und Keimspray	Keimzahl nach Prodig.-Spray		Desinfekt.-Mittel Totalmenge ("Defensol")	Raum-Temp.
		Quant.	Sediment.		
5.4.	30'	469	7	0.8 g	16.5°C
12.4.	30'	450	25	0.5 g	16.0°C
5.5.	30'	450	29	1.0 g	17.0°C
14.4.	60'	9581	556	0.5 g	17.5°C
16.4.	3h	56550	3284	0.8 g	18.0°C

Tabelle 4.

Keimzahl nach einem zeitlichen Intervall zwischen Zerstäubung des Desinfektionsmittels und Keimzerstäubung.

sterman (19) zum ersten Mal verfochten wurde. Ein weiterer Faktor bei der Beurteilung der Wirkung von Luftdesinfizientien ist die "Umlaufszeit". Man versteht darunter in unserer Versuchsanordnung die Zeit, die vergeht, bis sich der Prodigiosus-Spray mit dem vorher zerstäubten Desinfektionsmittel vollständig vermischt hat; man muss sich vorstellen, dass bei der Tätigkeit des Aerosolapparates die ganze Raumluft in eine gerichtete Bewegung gerät. Wiederum haben wir zuerst "Defensol" (Total lg) und unmittelbar anschliessend die Prodigiosus-Suspension im Raume zerstäubt. Die Keimbestimmung erfolgte jedoch gleichzeitig mit dem Beginn des Prodigiosus-Sprays zum ersten Mal und dann in Abständen von 15'. Die Resultate sind in Tab.5 zusammengestellt. Daraus ist ersichtlich, dass eine Wirkung schon in den ersten 15' Minuten eintreten muss. Ja, der erste Wert im Kontrollversuch ist gegenüber dem entsprechenden Wert mit "Defensol" und Propylenglykol so hoch, dass eine Verminderung der Keimzahl schon in den ersten paar Minuten eintreten muss. Hervorzuheben ist an dieser Stelle noch, dass das Propylenglykol (hier primär nicht in Dampfform), das in der Literatur als sehr gutes Raum-Desinfektionsmittel beschrieben wird, seine Wirkung nicht so rasch entfaltet wie das "Defensol". Leider hatten wir keine geeignete Apparatur, um der Frage nachzugehen, ob diese Mittel in Dampfform tatsächlich besser wirksam ist. Nach 90' und 120' konnten keine Prodigiosus-Keime mehr festgestellt werden, sondern nur noch die üblichen Luftbakterien.

Auch zu diesen letzten Versuchen ist zu sagen, dass sich unsere beiden Methoden als fast gleichwertig nebeneinander stellen lassen; jedoch ergänzt die quantitative Methode die semiquanti-

Zeit	"Defensol" (tot. lg) Temp. 17.5°C	Kontrolle (Temp. 17°C)	Propylenglykol (tot. 4g Temp. 17°C)
	Defen- sol		Prop. Glyk.
30'	23050 4728	104800 5143	29750 2544
	Prodig. 500 18	Prod. 116750 4060	Prodig. 5850 254
60'	100 34	106061 4178	100 8
90'	700 15	350 12	150 9
120'	733 7	150 10	134 10

Tabelle 5.

Versuche zur Bestimmung der "Um-
laufszeit" (jeweilen Wheeler'sche
und Sedimentationsmethode).

tative unter gewissen Bedingungen - Unterschiede in der Raum-Temperatur bei den Keimzählungen - mit nützlichen Informationen.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Es wird eine Uebersicht gegeben über die qualitativen und quantitativen Methoden zur Luftkeimzahlbestimmung.
2. Die theoretischen Probleme der modernen Raumlufthygiene werden erörtert.
3. In eigenen Versuchen wird eine Versuchsanordnung ausgebaut, die in erster Linie zur Untersuchung der praktischen Verwendbarkeit einer einfachen quantitativen Luftkeimzahlbestimmung in Kombination mit der Sedimentationsmethode dient.
4. Es wird gezeigt, dass auch die alte Sedimentationsmethode bis zu einem gewissen Grade quantitativ verwendbare Resultate liefern kann; dementsprechend wird vorgeschlagen, sie als semiquantitativ zu bezeichnen.
5. Die semiquantitative Methode allein kann zu Trugschlüssen führen, wenn man nicht berücksichtigt, dass der Keimzahlabfall sich in gewissen Versuchsphasen mit ihrer Hilfe nicht so genau erfassen lässt wie mit der Wheeler'schen Methode.
6. In Versuchen mit Luftdesinfektionsmitteln wird gezeigt, dass es mit der angegebenen einfachen Versuchsanordnung möglich ist, mit grosser Wahrscheinlichkeit nachzuweisen, dass das Vorhandensein des Desinfektionsmittels in seiner Dampfphase das Resultat beeinflusst. Damit werden die Ergebnisse von Masterman (19) bestätigt.

Ausserdem wird gezeigt, dass die Verminderung der Keimzahl schon in den ersten paar Minuten nach Einsetzten der Aerosolwirkung einsetzt.

LITERATURVERZEICHNIS.

- (1) Chope und Smellie, J.Industr.Hyg.Tox. (brit.)
18, fasc. 10 (1936)
- (2) Petri, Zschr. Hyg. Inf. Kr. 3, 1 (1888)
- (3) Ficker, Zschr. Hyg. Inf. Kr. 22, 33 (1896)
- (4) Flügge, " " " " 30, 107 (1899)
- (5) " " " " 25, 179 (1897)
- (6) Wells W.F., Am. J. Publ. Hlth. 23, 58 (1933)
- (7) Wells und Stone, Am. J. Hyg. 30, 619 (1943)
- (8) Wells und Wells, JAMA 107, 1698 und 1805 (1936)
- (9) Pressman R., Am. Rev. Tub. 35, 915 (1937)
- (10) Hollaender und Dalla Valle, Publ. Hlth. Rep. (Wash.),
54, 574 (1939)
- (11) Wheeler, Foley und Jones, Science 94, 445 (1941)
- (12) Med. Res. Council, spec. rep. series No. 262 (London 1948)
- (13) Moulton, Puck und Lemon, Science 97, 516 (1943)
- (14) Bourdillon, Lidwell und Thomas, Brit. J. Hyg. 41, 197 (1941)
- (15) Trillat, Bull. Ac. Méd. 119, 64 (1938)
- (16) Winkel und Gerhardt, Berlin 1934
- (17) Acklin und Schmid, Therap. Umsch. VI, 1 (1949)
- (18) Pulvertaft, Lemon und Walker, Lancet 1939 I, 443
- (19) Masterman J., J. Industr. Hyg. 20, 278 (1938)
- (20) Twart und Baker, J. Hyg. (Cambr.) 40, 253 (1940)
- (21) Robertson, Bigg, Miller und Baker, Science 93 213 (1941)
- (22) Robertson, Bigg, Puck und Miller, J. Exp. Med. 75, 503 (1942)
- (23) Puck, J. Exp. Med. 85, 729 (1947)
- (24) " " " " 85, 742 (1947)
- (25) Harris und Stokes, Am. J. Med. Sc. (N.S.) 209, 152 (1945)
- (26) " " " " " " " 206, 180 (1949)
- (27) Puck, Robertson und Lemon, J. Exp. Med. 78, 387 (1943)
- (28) Dunklin und Puck, J. Exp. Med. 87, 87 (1948)
- (29) Wells W.F., J. Bact. 46 549 (1943)
- (30) Wiesmann, Praxis 1949 No. 43

